

スーパー抗原合成抗MUC1抗体とLAK細胞による胆管癌細胞株に対する養子免疫療法

| | |
|-----|---|
| 著者 | 篠田 雅央 |
| 号 | 1474 |
| 発行年 | 1998 |
| URL | http://hdl.handle.net/10097/21605 |

論 文 内 容 要 旨

【研究目的】

胆道癌の治療を考える時、病変存在部位を en-bloc に切除する外科治療が理想であるが、実際に遭遇する症例は高度進行症例が多く切除不能例が多数を占める。われわれは 1988 年より、これら切除不能胆道癌症例に対して胆管腔内放射線照射療法、腫瘍局注癌化学療法、肝動注癌化学療法を駆使する積極的な集学的治療を展開してきた。その結果、さらなる治療成績の向上には高い腫瘍特異性を有する新しい治療法の開発が不可欠であると考えるにいたり、養子免疫療法に着目し lymphokine activated killer (以下 LAK) 細胞を用いた予備実験を展開してきた。しかしながら、LAK 細胞自体の生体内での活性の低下およびターゲッティング能の低さが、十分なる効果の発現を期待する際には大きな問題であった。われわれはこの障壁を打開する手段として、腫瘍特異的抗原に対する抗体とスーパー抗原とを合成した上で LAK 細胞に併用する独自の免疫療法に着目し、胆管癌に対して特異性のきわめて高い治療法として臨床に用いるべく基礎的研究を行った。

【研究結果】

Effector 細胞として、比重遠心法で末梢血から分離した単核球よりヒト rIL-2 を用いて作成した LAK 細胞を用いた。腺癌関連の糖蛋白抗原である MUC1 の抗体・MUSE11 およびその F (ab')₂ と、スーパー抗原である Staphylococcal enterotoxin A (SEA) を SPDP {N-succinimidyl 3-(2-pyridyldithio)} propionate と 2-iminothiolane-HCL を用いて SEA-MUSE11, SEA-F (ab')₂ の形に化学的に合成した。標的細胞には当施設で樹立した肝外胆管癌細胞株 (TFK-1) と肝細胞癌細胞株 (HT-17) を使用し、前述した各種抗体を用いた際の標的細胞に対する LAK 細胞のターゲッティング能および細胞傷害活性の増強効果について検討した。

FACS による解析では SEA-MUSE11 および SEA-F (ab')₂ は MUSE11 側が TFK-1 に強く反応し、SEA 側が LAK 細胞の MHC class II 分子に反応して癌細胞と LAK 細胞とを架橋することが明らかになった。MUSE11 単独、SEA 単独、SEA と MUSE11 を混合しただけの SEA+MUSE11, SEA-MUSE11 および SEA-F (ab')₂ をそれぞれ用いたときの E/T 比 5 の細胞傷害活性 (48hr MTS assay 法) の検討では、SEA-MUSE11 群および SEA-F (ab')₂ 群において 0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の低濃度から 60% 前後の高い細胞傷害活性が認められた。また、SEA であらかじめ刺激した LAK 細胞は癌細胞に対する細胞傷害活性を上昇させることも示された。以上より、これらの合成抵抗は LAK 細胞の癌細胞に対するターゲッティング能を向上させるばかりではなく、

非特異的な細胞傷害活性をも上昇させることが証明された。さらに、ウサギ抗 SEA 抗体および MUSE11 による blocking test と、コントロールとして用いた HT-17 に対する細胞傷害活性の検討により、合成抗体由来の傷害活性の肝外胆管癌細胞株 (TFK-1) に対する特異性が確認された。

SCID マウスを用いて治療実験モデルを作成し抗腫瘍効果を検討した。すなわち、TFK-1 を皮下に生着させた SCID マウスに、2 μ g の各種抗体を加えて 1 時間 4 $^{\circ}$ C で incubate した 2×10^7 個の LAK 細胞と IL-2 (500 IU) を 4 日間連続尾静脈内に投与し、皮下腫瘍径を 10 週間測定した。また、各群ともに 15 匹から 25 匹のマウスを使用し、それぞれの腫瘍質量を換算した。その結果、SEA-MUSE11 群と SEA-F (ab') 2 群においてのみ早期から著しい抗腫瘍効果が認められ、その効果は観察期間中を通して持続した。最終的には腫瘍の完全消失は認められなかったものの、コントロール群に比して約 70% の腫瘍増殖抑制が得られた。

以上、胆管癌に発現が多い MUC1 に着目し、この抗体である MUSE11 の IgG および F (ab') 2 とスーパー抗原の SEA から SEA-MUSE11 および SEA-F (ab') 2 を作製し、in vitro で胆管癌細胞株に対する LAK 細胞の細胞傷害活性とターゲティング能の両者の向上を確認した。さらに SCID マウスを用いた治療実験においても、著明な抗腫瘍効果が得られた。

スーパー抗原に癌特異的抗体を合成して、その抗腫瘍効果をみた実験的研究は、すでに報告されているものの、LAK 療法に応用した上で固形腫瘍を標的として、動物実験レベルで十分なる腫瘍増殖抑制効果を確認した検討は本研究が嚆矢となる。この研究成果は胆管癌に対する特異的養子免疫療法の臨床応用に道を開くものであり、その意味でも重要な研究といえる。

審 査 結 果 の 要 旨

胆道癌の治療においては外科治療が理想的であるが、実際に遭遇する症例は高度進行症例が多く切除不能例が多数を占める。これら切除不能胆道癌症例に対する治療成績の向上を目的として、lymphokine activated killer (以下 LAK) 細胞を用いた養子免疫療法に着目し、その欠点を補うためにスーパー抗原を利用してより高い腫瘍特異性を有する新しい治療法を開発すべく基礎的研究を行っている。既に欠点として明らかにされている LAK 細胞の生体内での活性低下およびターゲティング能の低さを打開する手段として、腫瘍特異的抗原に対する抗体とスーパー抗原との化学的合成物を併用し、肝外胆管癌細胞株 (TFK-1) に対する抗腫瘍効果を *in vitro* および SCID マウスを用いた *in vivo* の実験系で検討している。

腺癌関連の糖蛋白抗原である MUC1 の抗体 (MUSE11) およびその F (ab')₂ と、スーパー抗原である Staphylococcal enterotoxin A (SEA) を化学的に合成した SEA-MUSE11 および SEA-F (ab')₂ を、末梢血から分離しヒト rIL-2 を用いて作成した LAK 細胞とともに用いた *in vitro* の実験では、SEA-MUSE11 ならびに SEA-F (ab')₂ を用いた群で E/T 比 5 の 0.01 μ g/ml という低濃度から 60% 前後の高い細胞傷害活性が認められ、この細胞傷害活性は FACS による解析により MUSE11 側が TFK-1 に強く反応し、SEA 側が LAK 細胞に反応して両者を架橋していることが示されている。また、SEA であらかじめ刺激した LAK 細胞は癌細胞に対する細胞傷害活性を上昇させることも示され、以上より合成抗体は LAK 細胞の癌細胞に対するターゲティング能を向上させるばかりではなく細胞傷害活性をも上昇させることが証明されている。さらに、ウサギ抗 SEA 抗体および MUSE11 による blocking test と、コントロールとして用いた HT-17 に対する細胞傷害活性の検討により特異性を確認している。

SCID マウスを用いた治療実験モデルにおける抗腫瘍効果の検討では、SEA-MUSE11 群と SEA-F (ab')₂ 群においてのみ著しい抗腫瘍効果が認められ、その効果は観察期間中を通して持続した。最終的には腫瘍の完全消失は認められていないがコントロール群に比して約 70% の腫瘍増殖抑制が得られた。

以上、胆管癌に発現が多い MUC1 に着目し、この抗体である MUSE11 の IgG および F (ab')₂ とスーパー抗原の SEA から SEA-MUSE11 および SEA-F (ab')₂ を作製し、*in vitro* で胆管癌細胞株に対する LAK 細胞の細胞傷害活性とターゲティング能の両者の向上が確認され、さらに SCID マウスを用いた治療実験においても著明な抗腫瘍効果が得られている。スーパー抗原に癌特異的抗体を合成して、その抗腫瘍効果をみた実験的研究は、すでに報告されているものの LAK 療法に応用した上で固形腫瘍を標的として、動物実験レベルで十分なる腫瘍増殖抑制効果を確認した検討は本研究が嚆矢となる。この研究成果は胆管癌に対する特異的養子免疫療法の臨床応用に道を開くものであり、その意味でも学位論文に値する重要な研究といえる。